

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
26. Juni 2003 (26.06.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/051385 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 38/13, 9/107

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/14749

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. Dezember 2001 (14.12.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): JAGOTEC AG [CH/CH]; Eptingerstrasse 51, CH-4132 Muttenz (CH).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WOHLRAB, Johannes [DE/DE]; Schillerstrasse 57, 06114 Halle/S. (DE). NEUBERT, Reinhard [DE/DE]; Schwuchtrasse 46b, 06120 Halle/S. (DE). JAHN, Konstanze [DE/DE]; Gärtnerstrasse 5, 39171 Beyendorf (DE).

(74) Anwalt: PFENNING, MEINIG & PARTNER GBR; Mozartstrasse 17, 80336 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PHARMACEUTICAL FORMULATION COMPRISING CYCLOSPORIN AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: ARZNEIFORMULIERUNG ENTHALTEND CICLOSPORIN UND DEREN VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a pharmaceutical formulation in colloidal form for topical application, for the therapy and prophylaxis of pathological changes of the skin and/or cutaneous appendages and/or mucous membranes, including mucous membranes of the intestinal tract, urogenital tract, the bronchial system and/or conjunctiva. Said preparation comprises a lipophilic phase in an amount of 1-10 wt. %, a mixture of surfactant and co-surfactant in an amount of 1-50 wt. %, a hydrophilic phase in an amount of 40-80 wt. % and cyclosporin or derivatives thereof as active ingredient at a concentration of 0.1-20 wt. %.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft eine Arzneiformulierung in kolloidaler Form zur topischen Anwendung für die Therapie und Prophylaxe krankhafter Veränderungen der Haut und/oder Hautanhangsgebilde und/oder Schleimhäute, einschliesslich Schleimhäute des Verdauungstraktes, Urogenitaltraktes sowie Bronchialsystems und/oder Konjunktiven, enthaltend eine lipophile Phase in einer Menge von 1-10 Gew.-%, eine Mischung aus Tensid und Cotensid in einer Menge von 1-50 Gew.-%, eine hydrophile Phase in einer Menge von 40-80 Gew.-% und als Wirkstoff Ciclosporin und/oder Derivate hiervon in einer Konzentration von 0,1-20 Gew.-%.

WO 03/051385 A1

BEST AVAILABLE COPY

5

10

15

**Arzneiformulierung enthaltend Ciclosporin und deren
Verwendung**

20 Die Erfindung betrifft kolloidale Arzneistoffträger-
systeme, enthaltend Ciclosporin, zur topischen Appli-
kation auf Haut und Schleimhaut, bestehend aus einer
Tensid/Cotensid-Mischung (Polyoxyethylenglycerolmo-
nooleat/Poloxamere), einer hydrophilen Phase, z.B.
25 Propylenglykol/Wasser-Mischungen, einer lipophilen
Phase (Isopropylpalmitat bzw. Ölsäure) sowie Penetra-
tionsenhancern.

30 Diese Erfindung betrifft insbesondere Ciclosporin A
(CsA) enthaltende pharmazeutische Zubereitungen zur
topischen Applikation für die Therapie krankhafter
Veränderungen der Haut, Hautanhangsgebilde oder der
Schleimhäute, insbesondere der atopischen Dermatitis
und der Psoriasis vulgaris, die Verwendung dieser Zu-
35 bereitungen und Verfahren zu deren Herstellung.

Es ist bekannt, daß CsA ein aus 11 Aminosäuren bestehendes cyclisches Peptid mit einer molaren Masse von 1202 g/mol ist, das vom Bodenpilz *Tolypocladium inflatum* produziert wird. CsA ist nur sehr schwer in Wasser ($<0,04$ mg/ml bei 25°C), dagegen gut in Ölen und Alkoholen löslich. Seine immunmodulierende Wirkung basiert auf der Hemmung der Freisetzung von Interleukin-1 aus Makrophagen und von Interleukin-2 aus T-Helferzellen, die wiederum zytotoxische T-Vorläuferzellen aktivieren, aus denen die zytotoxischen T-Zellen entstehen. Hierbei wird die Transkription der Gene gehemmt, die die genannten Zytokine kodieren. Dabei beeinflußt CsA nur in geringem Maße die körpereigene Abwehr. Aus galenischer Sicht ist der Arzneistoff eine insbesondere für die topische Therapie ungeeignete Substanz, weil die hohe Lipophilie eine Penetration durch die epidermale Lipidbarriere nahezu unmöglich erscheinen läßt. Als Grund für das Scheitern bisheriger Versuche der Herstellung und Anwendung von verschiedenen lipophilen, hydrophilen und liposomalen Präparationen zur topischen Anwendung wird meist die ungenügende Penetration des Arzneistoffs angegeben.

In der Dermatologie hat sich CsA in der systemischen Applikation besonders zur Behandlung der schweren Psoriasis und atopischen Dermatitis bewährt. Darüber hinaus liegen Berichte und Studien über die Wirksamkeit nach systemischer Applikation bei einer Vielzahl weiterer entzündlicher Dermatosen (z.B. Dermatitis ulcerosa, Lichen ruber, aktinisches Retikuloid, disseminierte Granuloma anulare) vor.

In WO 9302664 werden W/O-Mikroemulsionen beschrieben, die eine lipophile Phase (mittelkettige Triglyceride und ein Tensid mit niedrigem HLB-Wert im Verhältnis

5:1 bis 1,5:1), eine wäßrige hydrophile Phase, ein Tensid mit hohem HLB-Wert sowie ein wasserlösliches therapeutisches Agens enthalten.

- 5 Die GB 2222770 umfaßt Mikroemulsions-Präkonzentrate bestehend aus CsA, einer hydrophilen Phase (Propylenglykol oder Partialether von niedermolekularen Mono- bzw. Polyoxyalkandiolen (Transcutol/Glycofurol), einer lipophilen Phase (mittelkettige Triglyceride und einem Tensid (Cremophor RH 40). Die Systeme sind
10 geeignet für die perorale Applikation und verbessern die Bioverfügbarkeit verglichen mit vorhandenen Systemen.
- 15 Die EP 760237 beschreibt O/W-Mikroemulsionen für wasserunlösliche pharmazeutisch aktive Substanzen wie CsA, die vollständig gelöst sind in den dispergierten Öltröpfchen. Die Systeme bestehen aus einem C₈-C₂₀ substituierten pflanzlichen Triglycerid, Lecithin so-
20 wie einem anderen Tensid und einer Propylenglykol enthaltenden hydrophilen Phase.
- Die WO 9722358 beinhaltet Mikroemulsions-Präkonzentrate mit CsA, wobei der Arzneistoff in einem System,
25 bestehend aus hydrophoben (Tocopherolen bzw. -derivaten) und hydrophilen Komponenten (Propylencarbonat und Polyethylenglycol mit Molekulargewicht<1000) sowie Tensid, gelöst ist.
- 30 Die bisher beschriebenen Systeme weisen jedoch einige wesentliche Nachteile auf. Zur Solubilisierung werden teilweise organische Lösungsmittel verwendet, die anschließend wieder aus der Formulierung rückstandsfrei entfernt werden müssen. Oftmals werden Tensid/Cotensid-Kombinationen zur Löslichkeitsverbesserung des
35 Arzneistoffes in zu hohen Konzentrationen (mehr als

20% m/m) eingesetzt. Einige Publikationen erwähnen Systeme, die nicht ausschließlich aus hautverträglichen Inhaltsstoffen zusammengesetzt sind. Es werden einige Mikroemulsions-Präkonzentrate beschrieben, deren eigentliche Struktur sich erst nach Applikation in situ ausbilden soll. Desweiteren weisen die vorhandenen Systeme weitaus größere Teilchendurchmesser auf.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, ein neues kolloidales Arzneistoffträgersystem vorzuschlagen, das im wesentlichen aus dermatologisch verträglichen Inhaltsstoffen besteht, wobei dieses Arzneistoffträgersystem gleichzeitig verhältnismäßig geringe Tensid/Cotensidgehalte aufweisen sollte.

Die Aufgabe wird durch die kennzeichnenden Merkmale des Patentanspruches 1 gelöst. In bezug auf die Verwendung wird die Erfindung durch die Merkmale der Ansprüche 14 bis 20 gelöst.

Erfindungsgemäß wird somit vorgeschlagen, daß die Arzneiformulierung in kolloidaler Form aus vier wesentlichen Bestandteilen besteht. Die erfindungsgemäße Arzneiformulierung enthält somit eine lipophile Phase, eine Mischung aus Tensid und Cotensid, eine hydrophile Phase sowie als Wirkstoff Ciclosporin in den in Anspruch 1 angegebenen Konzentrationen.

Der Vorteil der erfindungsgemäßen kolloidalen Arzneistoffträgersysteme ist insbesondere in der Zusammensetzung aus ausschließlich dermatologisch verträglichen Inhaltsstoffen, in verhältnismäßig geringen Tensid/Cotensidgehalt sowie der geringen Teilchengröße der dispergierten Partikel zu sehen.

Aus stofflicher Sicht eignen sich für die lipophile Phase für die Arzneiformulierung nach der Erfindung insbesondere Öle, Wachse oder Fette. In bezug auf die lipophile Phase können für sich alle aus dem Stand der Technik bisher bekannten lipophilen Phasen eingesetzt werden. Besonders bevorzugt sind Triglyceride, Isopropylmyristat, 2-Octyldodecanol, Isopropylpalmitat oder Ölsäure. Die lipophile Phase ist mit 1-10. Gew.-% in der Formulierung enthalten.

10

Wesentliches Element der Arzneiformulierung nach der Erfindung ist die Mischung aus Tensid und Cotensid, die in einer Menge von 1 bis 50 Gew.-%, bevorzugt von 20-30 Gew.-% eingesetzt wird. Aus stofflicher Sicht sind Tenside ausgewählt aus Polyoxyethylenglycerolfettsäureestern und Polyoxyethylensorbitanfettsäureestern bevorzugt. Beispiele für das Cotensid sind Poloxamere, Blockcopolymere aus Polyoxyäthylen und Polyoxypropylen.

20

Ein besonders bevorzugtes Mischungsverhältnis ist ein Masseverhältnis von 1,5 bis 2,5 für das Tensid und 2,5 bis 3,5 für das Cotensid. Die Erfinder konnten nachweisen, daß insbesondere die Einhaltung dieses Tensid/Cotensid-Mischungsverhältnisses für die Stabilität und die Anwendbarkeit der Arzneiformulierung wichtig ist.

25

Wenn die Tensid/Cotensid-Mischung aus Polyoxyethylenglycerolfettsäureestern und Poloxameren in einem Masseverhältnis von 2:3 besteht, konnten besonders gute Ergebnisse erzielt werden.

30

Die erfindungsgemäße Formulierung enthält weiterhin eine hydrophile Phase die, wie an und für sich aus dem Stand der Technik bekannt, aus Polyolen, Wasser.

35

oder einem Polyol oder einer Polyol-Puffer-Mischung oder nur Puffer, bestehen kann. Die Konzentration dieses Bestandteiles beträgt 40-80 Gew.-%, bevorzugt 60-75 Gew.-%.

5

Eine weitere vorteilhafte Ausgestaltung der Erfindung sieht vor, daß bei der hydrophilen Phase eine Mischung aus Propylenglycol und Wasser im Verhältnis von 1:10 bis 10:1 eingesetzt wird. Ein besonders bevorzugtes Mischungsverhältnis ist 2:1.

10

Erfindungsgemäß enthält die Arzneiformulierung als Wirkstoff Ciclosporin und/oder ein Derivat hiervon in einer Konzentration von 0,1-20 Gew.-%. Besonders bevorzugt ist es, wenn die Arzneiformulierung Ciclosporin A und/oder seine Derivate enthält. Die bevorzugte Konzentration liegt hierbei im Bereich von 0,01-10 Gew.-%, besonders bevorzugt bei 0,5-5 Gew.-%.

15

Selbstverständlich ist es auch möglich, daß in der Arzneiformulierung neben Ciclosporin A und/oder seinen Derivaten ein weiterer Wirkstoff enthalten ist. Beispiel für derartige Wirkstoffe sind Corticosteroide, Antibiotika, Antimykotika und/oder Virustatika.

20

25

Wie an und für sich aus dem Stand der Technik bekannt, können der Arzneiformulierung nach der Erfindung auch die üblichen Additive wie Penetrationsenhancer zugesetzt werden. Wenn Penetrationsenhancer zugesetzt werden, sind Dimethylsulfoxid oder kurzkettige Alkohole in einer Konzentration von 5-10 Gew.-% bevorzugt.

30

35

Die erfindungsgemäße Arzneiformulierung liegt in kolloidaler Form vor. Bevorzugt ist es hierbei, wenn die disperse Phase Teilchendurchmesser in der Größenord-

nung von 5 bis 200 nm aufweist. Besonders bevorzugt liegen die Teilchendurchmesser im Größenbereich von 5 bis 100 nm.

5 Die erfindungsgemäße Arzneiformulierung ist besonders geeignet zur Prophylaxe entzündlicher Haut- und Schleimhauterkrankungen, zur Therapie und Prophylaxe der atopischen Dermatitis, zur Therapie und Prophylaxe der Psoriasis vulgaris.

10 Andere geeignete Verwendungen sind die Therapie und Prophylaxe von Kollagenosen, chronischen Wunden, Verbrennungen und/oder chronisch entzündlichen Haut- und Schleimhauterkrankungen sowie zur Therapie und Prophylaxe von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und zur Therapie und Prophylaxe von entzündlichen Erkrankungen des Auges und nach Transplantationen.

20 Nachfolgend wird die Erfindung anhand verschiedener Zusammensetzungen und Untersuchungsergebnisse näher beschrieben.

Zusammensetzung und Herstellung der Vehikelsysteme

25 Es wurden drei kolloidale Arzneistoffträgersysteme entwickelt, deren Zusammensetzung aus Tabelle 1 ersichtlich ist.

IPP-System		m [g]	% [w/w]
Ciclosporin A 2,0% (w/w)	Ciclosporin A	0,2	2,0
Tagat® O2/Synperonic® PE/L 101 2:3	Tagat® O2	0,8	8,0
20,0% (w/w)	Synperonic® PE/L 101	1,2	12,0
Isopropylpalmitat (IPP) 5,0% (w/w)	Isopropylpalmitat	0,5	5,0
Propylenglykol/Wasser 2:1 73,0% (w/w)	Propylenglykol	4,87	48,7
	Wasser	ad	24,3
		10,0	
DMSO-System			
Ciclosporin A 2,0% (w/w)	Ciclosporin A	0,2	2,0
Tagat® O2/Synperonic® PE/L 121 2:3	Tagat® O2	0,8	8,0
20,0% (w/w)	Synperonic® PE/L 121	1,2	12,0
Ölsäure 5,0% (w/w)	Ölsäure	0,5	5,0
Dimethylsulfoxid (DMSO) 5,0% (w/w)	Dimethylsulfoxid	0,5	5,0
Propylenglykol/Wasser 2:1 68,0% (w/w)	Propylenglykol	4,53	45,3
	Wasser	ad	22,7
		10,0	
ÖS-System			
Ciclosporin A 1,5% (w/w)	Ciclosporin A	0,15	1,5
Tagat® O2/Synperonic® PE/L 121 2:3	Tagat® O2	0,8	8,0
20,0% (w/w)	Synperonic® PE/L 121	1,2	12,0
Ölsäure 5,0% (w/w)	Ölsäure	0,5	5,0
Propylenglykol/Wasser 2:1 73,5% (w/w)	Propylenglykol	4,9	49,0
	Wasser	ad	24,5
		10,0	

Tab. 1: Entwickelte kolloidale Arzneistoffträgersysteme

5

Die Herstellung der Systeme erfolgte durch die konkrete Abfolge der folgenden Schritte:

10

15

- Einwiegen des Arzneistoffs
- Zugabe der Tensid/Cotensidmischung
- gut verreiben
- Zugabe der erforderlichen Menge IPP
- gut mischen
- Zugabe der hergestellten Mischung aus Propylenglykol und Wasser
- Rühren bis zum Klarwerden, evtl. kurze Behand-

lung des kolloidalen Systems mit Ultraschall

Als Emulgatoren wurden Polyoxyethylenglycerolmonooleat (Tagat® 02) sowie Poloxamere (Synperonic® PE/L 101 bzw. 121) ausgewählt. Für die Herstellung der Vehikelsysteme hat sich dabei eine Kombination aus beiden im Verhältnis 2:3 Massenanteile als besonders geeignet erwiesen.

Mischungen der beiden Tenside sowie von Propylenglykol/Wasser wurden im voraus hergestellt. Zunächst wurde der pulverisierte Arzneistoff mit der Tensidmischung sorgfältig angerieben und dann die lipophile Phase (Isopropylpalmitat oder Ölsäure) zugesetzt. Anschließend erfolgte die Zugabe der hydrophilen Phase (Propylenglykol/Wasser-Mischung) und Rühren bis zum Klarwerden. DMSO wurde zuletzt eingearbeitet. Falls erforderlich, wurden die Systeme für einige Minuten im Ultraschallbad belassen.

Als lipophile Komponenten wurden Isopropylpalmitat bzw. Ölsäure eingesetzt, die beide als Lösungsmittel für CsA fungieren. Weiterhin erfüllt die Ölsäure die Funktion eines Penetrationenhancers, um die Permeation des CsA durch das Stratum corneum zu erleichtern. Dimethylsulfoxid wurde zugesetzt zur Verbesserung der Löslichkeit des CsA im Vehikel und wegen seiner penetrationsfördernden Eigenschaften. Als Tensid/Cotensid-Mischung wurden Polyoxyethylenglycerolmonooleat, das in 100%iger Konzentration reaktionslos von Humanhaut vertragen wird und gut schleimhautverträglich ist, sowie Poloxamere, die für die intravenöse Administration zugelassen sind, ausgewählt.

Charakterisierung der Vehikelsysteme

Die Arzneistoffträgersysteme wurden u.a. mit Hilfe der dynamischen Laserlichtstreuung charakterisiert. Dieses Verfahren ist zur Größenbestimmung kolloidaler Partikel in flüssigen Medien geeignet. Für die arzneistofffreien Formulierungen konnten Teilchendurchmesser von circa 20 nm ermittelt werden.

Analytik

Die Bestimmung des CsA erfolgte mit Hilfe einer HPLC-Methode (modifiziert nach Merck KgaA - Darmstadt).

Die technischen Daten sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

HPLC-Anlage	Merck-Hitachi L-4250 UV-VIS Detektor AS-4000A Intelligent Auto-sampler D-6000A Interface L-6200A Intelligent Pump
stationäre Phase	Lichrospher® RP select B (Merck), 125x4 mm ID, 5 µm
mobile Phase	Acetonitril/Wasser 70/30 (V/V)
Fluß	1 ml/min, isokratisch
Temperatur	60°C
Detektion	UV 210 nm

Tab. 2: Analytische Daten

Liberationsuntersuchungen

Mit Hilfe eines Mehrschichtmembranmodellsystems wurde die in-vitro-Freisetzung des Arzneistoffs aus den oben genannten Formulierungen in Abhängigkeit von der Zeit untersucht.

Die einzelnen Zellen des Modells bestanden jeweils aus Grund- und Deckscheibe, zwischen denen die Membranschichten angeordnet wurden. Über eine Aussparung der Deckscheibe (4cm²) wurde eine definierte Menge an Formulierung (10-20mg) auf die Membranen appliziert. Als Akzeptor dienten Dodecanol-Collodium-Membranen mit einem Gehalt von 2% Dodecanol, die mit Hilfe eines Filmziehgeräts hergestellt wurden. Über die Bestimmung der Sättigungslöslichkeit von CsA in Dodecanol konnte die Aufnahmekapazität des Akzeptors ermittelt werden. Dies ist wichtig, um sicherzustellen, daß das Erreichen der Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffs in den Membranen nicht der limitierende Faktor der Liberation ist. Durch die Verwendung von drei übereinander gelegten Membranen wurden Sink-Bedingungen im Akzeptor gewährleistet.

Während der Versuchsdauer (30, 100, 300 und 1000 Minuten) wurde das Modell bei 32±1°C temperiert. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde die überschüssige Formulierung vorsichtig entfernt, die Membranen getrennt, mit einem Ethanol-Wasser-Gemisch (80/20; V/V) extrahiert und einer Gehaltsbestimmung mittels HPLC unterzogen. Es wurde pro Versuchszeit eine Fünffachbestimmung durchgeführt.

Aus Abbildung 1 ist erkennbar, daß alle drei Formulierungen bereits nach 30 Minuten ~25% des enthaltenen CsA freisetzen. Bei längeren Versuchszeiten erhöht sich die liberierte Arzneistoffmenge. In Abbildung 2 sind zum besseren Vergleich der unterschiedlich konzentrierten Vehikel die liberierten Arzneistoffmengen pro 10 mg applizierter Formulierung dargestellt.

Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, um zu gewährleisten, daß eine ausreichende Freisetzung von CsA aus den Vehikeln erfolgt und damit die Voraussetzung für eine Penetration in die menschliche Haut erfüllt ist.

Penetrationsuntersuchungen

Es wurde Humanhaut der Mamma verwendet, die durch Mammareduktionsplastiken gewonnen wurde. Die zugeschnittenen Hautstücke wurden bei -3°C gelagert. Nach dem Auftauen wurde die an der Oberfläche haftende Flüssigkeit mit einem Watteträger entfernt und die definierte Fläche von $3,14\text{ cm}^2$ ausgestanzt. Auf die Oberfläche wurden etwa 6mg des radioaktiv markierten Testpräparates je cm^2 so aufgetragen, daß ein möglichst gleichmäßiger Film auf der Hautoberfläche entstand. Anschließend wurde das Hautstück auf einer Gaze liegend in die auf 32°C temperierte Franz'sche Diffusionszelle gespannt. Selbige wurde vor Versuchsbeginn im gefüllten Zustand einer 30minütigen Equilibrierungsphase unterzogen. An die Hautunterseite bzw. die Gaze grenzte direkt das Akzeptormedium, das zur Verringerung der Diffusionsschichtdicke stetig gerührt wurde. Um physiologische Bedingungen zu simulieren, wurde isotone NaCl-Lösung als Akzeptorflüssigkeit verwendet. Die Untersuchungen wurden jeweils an 3 verschiedenen Operationspräparaten als Dreifachbestimmungen durchgeführt. Nach Ablauf der Einwirkungsdauer wurden die Hautstücke herausgenommen und mit Hilfe von Stecknadeln auf einer mit Aluminiumfolie ummantelten Styroporbox fixiert. Anschließend wurde das Testpräparat mit einem Mulltupfer abgewischt.

Das Entfernen des Stratum corneum erfolgte durch eine Schablone, die eine kreisrunde Aussparung ($d=16\text{mm}$) enthielt. Durch diese Aussparung wurden 20 Tesafil-
mabrisse (Tesa Film® 4 204, $33\text{ m} \times 19\text{ mm}$; Fa. Beiers-
dorf AG, Hamburg) von einer $2,0106\text{ cm}^2$ großen Hauto-
berfläche entfernt. Jeweils zwei nacheinander gewon-
nene Abrisse wurden zusammen vermessen.

Aus dem übrigen Hautstück wurden mittels einer Kromayer-Stanze (Durchmesser 6 mm ; Stiefel Laboratorium GmbH, Offenbach) etwa aus der Mitte des Hautareals 3 Zylinder mit einer Gesamtoberfläche von $0,848\text{ cm}^2$ ausgestantzt. Mit einem Gefriermikrotom wurden die so gewonnenen Gewebszylinder nacheinander auf -40°C tiefgefroren und horizontal zur Hautoberfläche aufgeschnitten. Dabei wurden $10 \times 20\text{ }\mu\text{m}$ -Schnitte zur Entfernung der vitalen Epidermisanteile und $15 \times 80\text{ }\mu\text{m}$ -Schnitte zur Aufarbeitung des Korioms entnommen. Danach blieben ein Koriumrest (Stumpf) und das Akzeptormedium übrig.

Aus den Abbildungen 3-5 ist ersichtlich, daß bei allen drei Formulierungen bereits nach 30 Minuten $>25\%$ (IPP 35%, ÖS 32%, DMSO 27%) des enthaltenen CSA bis in den Akzeptor penetriert sind. Bei längeren Versuchszeiten erhöht sich die penetrierte Arzneistoffmenge geringfügig. In den Abbildungen 6-8 sind zum besseren Vergleich der unterschiedlich konzentrierten Vehikel die penetrierten Arzneistoffmengen in μg dargestellt.

Die bisher publizierten galenischen Daten von ciclosporinhaltigen Präparationen für die topische Anwendung zeigen eine unzureichende Liberation und/oder Penetration der Wirksubstanz. Dabei sind hydrophile und lipophile Standardsysteme bzw. liposomale Zube-

reitungen untersucht worden. Vielfach finden sich auch in den Publikationen keine exakten Hinweise auf die Inhaltsstoffe der verwendeten Präparationen, die Art der Herstellung oder die galenischen Daten. Für den ausbleibenden klinischen Effekt werden zwei Gründe angegeben. Erstens geht man wegen der starken Lipophilie von CsA von einer zu geringen Liberation und/oder Penetration des Wirkstoffes in die korialen Schichten der Haut aus. Zweitens wird in der hohen molaren Masse ein deutlich penetrationsinhibierender Faktor gesehen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen erstmals Liberations- und Penetrationsraten von ca. 25-30% der applizierten Wirkstoffkonzentration in den ersten 30 bis 100 Minuten an gesunder, also barriereintakter Haut ex vivo. Grundsätzlich ist an lässionaler Haut (z.B. psoriatischer Plaque) im Vergleich zu gesunder Haut von günstigeren Penetrationsbedingungen auszugehen.

Die topische Applikation von CsA ergibt im Vergleich zur systemischen Therapie deutliche Vorteile. Bei einer topischen Applikation ist auch bei großflächiger Behandlung mit minimalen und nicht klinisch relevanten systemischen Nebenwirkungen zu rechnen. Die bekannten unerwünschten Arzneistoffwirkungen, insbesondere Nierenfunktionsstörung und arterielle Hypertonie, sind nicht oder in einem geringeren Maße zu erwarten. Eine Verwendung kann sogar für Patienten in Frage kommen, die bereits durch eine systemische Therapie Nebenwirkungen entwickelt haben und deshalb nicht mehr mit CsA behandelt werden. Darüber hinaus ergibt sich durch die topische Applikation ein erweitertes Wirkungsspektrum. Bei einer Vielzahl von entzündlichen Dermatosen steht die Bildung und Wirkung von Stickstoffmonoxid (NO), welches aus L-Arginin durch das Enzym NO-Synthase gebildet wird, im Zentrum

der Pathogenese. Jüngste Forschungsergebnisse zeigen, daß die Vermittlung und Unterhaltung der Entzündung bei der Psoriasis wesentlich durch NO vermittelt wird. CsA ist bekanntlich ein suffizienter Blocker der NOS, die durch die Isoenzyme eNOS und iNOS auch in dermalen mikrovaskulären Endothelzellen präsent ist und durch eine hohe Gewebekonzentration an CsA nach topischer Applikation stärker inhibiert wird als nach systemischer Applikation. Zudem hat CsA auch einen proliferationsinhibierenden Effekt auf Keratinozyten, der bei topischer Applikation auf psoriatischer Haut synergistisch die Wirkung beeinflusst. Günstig wäre auch eine Kosteneindämmung pro Fall durch die geringere benötigte Menge an CsA.

Nachteile der topischen Applikation und der damit verbundenen erniedrigten Systemkonzentration werden vor allem in der ausbleibenden Wirkung auf die Lymphknoten gesehen, in denen wesentliche Aktivierungsvorgänge auf T-zellulärer Ebene ablaufen. Darüber hinaus wird ein therapeutischer Effekt bei Psoriasis arthropathica nicht zu erwarten sein.

Die vorliegenden Untersuchungen weisen erstmals nach, daß es gelungen ist, ein galenisches System zu entwickeln, welches die Voraussetzungen für eine Penetration von CsA in ausreichender Konzentration bis in die oberen Koriumschichten erfüllt. Es liegen stabile Vehikelsysteme vor, in die ausreichend CsA eingearbeitet werden kann. Die Beladung des Systems ist absichtlich sehr hoch gewählt worden, um die galenischen Eigenschaften der Systeme auszureizen und günstige Voraussetzungen für eine klinische Applikation zu schaffen. Geringere CsA-Konzentrationen sind bei ausreichender klinischer Wirksamkeit problemlos zu realisieren. Die Liberationsuntersuchungen weisen

nach, daß in relevanter Zeit Arzneistoffmengen zwischen 25 und 40% freigesetzt werden und für die Penetration in die Haut zur Verfügung stehen.

5 Von entscheidender Bedeutung für die präklinische Entwicklung werden die Penetrationsuntersuchungen unter ex vivo-Bedingungen bewertet. Sie verdeutlichen, daß nach relevanter Applikationsdauer (30-100 min) eine Penetration von ca. 25-30% der Wirkstoffkonzentration in bzw. durch die korialen Schichten erfolgt
10 und somit am gewünschten Wirkort zur Verfügung stehen.

Die Inhaltsstoffe der Präparationen sind nach dermatologischen Gesichtspunkten ausgewählt worden. Es
15 sind keine hochpotent sensibilisierenden Substanzen enthalten, und Selbstversuche haben eine gute Verträglichkeit gezeigt, die eine irritative oder toxische Wirkung auch unter Barrierefunktionsstörungen
20 bei verschiedenen Dermatosen sehr unwahrscheinlich erscheinen lassen. Als Hauptindikationsgebiete ergeben sich die Psoriasis vulgaris vom chronisch stationären Typ bzw. die atopische Dermatitis. Darüber hinaus ergeben sich in Anlehnung an die systemische Therapie eine Vielzahl von möglichen Indikationen. Ins-
25 besondere wird der Einsatz bei Kollagenosen, Verbrennungen, Haut- oder Schleimhauttransplantationen und chronischen Wunden für möglich gehalten.

30 Die Anwendung der Systeme ist nicht nur für die äußere Haut vorgesehen. Grundsätzlich ergibt sich auch die Möglichkeit einer Applikation am Auge nach Hornhauttransplantation oder zur Therapie des vernarbenden Schleimhautpemphigoids bzw. eine Applikation im
35 Mundschleimhautbereich bei Lichen ruber mucosae bzw. als Klistier bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.

kungen (z.B. M. Crohn, Colitis ulcerosa) ggf. auch durch intraluminale Aufschäumung.

Patentansprüche

- 5 1. Arzneiformulierung in kolloidaler Form zur topi-
schen Anwendung für die Therapie und Prophylaxe
krankhafter Veränderungen der Haut und/oder
Hautanhangsgebilde und/oder Schleimhäute, ein-
schließlich Schleimhäute des Verdauungstraktes,
10 Urogenitaltraktes sowie Bronchialsystems
und/oder Konjunktiven, enthaltend
- a) eine lipophile Phase in einer Menge von
1-10 Gew.-%,
15 b) eine Mischung aus Tensid und Cotensid in einer
Menge von 1-50 Gew.-%,
 c) eine hydrophile Phase in einer Menge von
40-80 Gew.-% und
20 d) als Wirkstoff Ciclosporin und/oder Derivate
hiervon in einer Konzentration von
0,1-20 Gew.-%.
2. Arzneiformulierung nach Anspruch 1, dadurch ge-
kennzeichnet, daß die lipophile Phase ausgewählt
25 ist aus pharmazeutischen Ölen, Wachsen oder Fet-
ten.
3. Arzneiformulierung nach Anspruch 2, dadurch ge-
kennzeichnet, daß die lipophile Phase ausgewählt
30 ist aus Triglyceriden, Isopropylmyristat, 2-
Octyldodecanol, Isopropylpalmitat oder Ölsäure.
4. Arzneiformulierung nach mindestens einem der An-
sprüche 1-3,
35 dadurch gekennzeichnet, daß

das Tensid ausgewählt ist aus Polyoxyethylenglycerolfettsäureestern und Polyoxyethylensorbitanfettsäure-estern.

- 5 5. Arzneiformulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß das Cotensid ausgewählt ist aus Poloxameren, Blockcopolymere aus Polyoxyethylen und Polyoxypropylen.
- 10 6. Arzneiformulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß die Tensid-Cotensid-Mischung in einem Masseverhältnis von 1,5 bis 2,5 für das Tensid und 2,5 bis 3,5 für das Cotensid, eingesetzt ist.
- 15 7. Arzneiformulierung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Tensid-Cotensid-Mischung aus Polyoxyethylenglycerolfettsäureester und Poloxameren in einem Massenverhältnis von 2:3 besteht.
- 20 8. Arzneiformulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1-7, dadurch gekennzeichnet, daß die hydrophile Phase ausgewählt ist aus Polyolen, Wasser oder Polyol-Puffer-Mischungen.
- 25 9. Arzneiformulierung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die hydrophile Phase eine Mischung aus Propylenglycol und Wasser im Verhältnis von 1:10 bis 10:1, bevorzugt 2:1 ist.
- 30 10. Arzneiformulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1-9, dadurch gekennzeichnet, daß Ciclosporin A und/oder seine Derivate in einer Konzentration von 0,01-10 Gew.-%, bevorzugt 0,5-5 Gew.-% enthalten sind.
- 35

- 5 11. Arzneiformulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1-10, dadurch gekennzeichnet, daß neben Ciclosporin A und/oder seinen Derivaten mindestens ein weiterer Wirkstoff, z.B. Corticosteroid enthalten ist.
- 10 12. Arzneiformulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1-11, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich Penetrationenhancer, wie z.B. Dimethylsulfoxid oder kurzkettige Alkohole in einer Konzentration von 5-10 Gew.-% enthalten sind.
- 15 13. Arzneiformulierung nach mindestens einem der Ansprüche 1-12, dadurch gekennzeichnet, daß die disperse Phase Teilchendurchmesser in der Größenordnung von 5 bis 200 nm aufweist.
- 20 14. Verwendung der Arzneiformulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 13, zur Therapie und Prophylaxe entzündlicher Haut- und Schleimhauterkrankungen.
- 25 15. Verwendung der Arzneiformulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 14, zur Therapie und Prophylaxe der atopischen Dermatitis.
- 30 16. Verwendung der Arzneiformulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15, zur Therapie und Prophylaxe der Psoriasis vulgaris.
- 35 17. Verwendung der Arzneiformulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 16, zur Therapie und Prophylaxe von Kollagenosen, chronischen Wunden, Verbrennungen und/oder chronisch entzündlichen Haut- und Schleimhauterkrankungen.

5

18. Verwendung der Arzneiformulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, zur Therapie und Prophylaxe von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.

10

19. Verwendung der Arzneiformulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 18, zur Therapie und Prophylaxe von entzündlichen Erkrankungen des Auges.

20. Verwendung der Arzneiformulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 19, zur Therapie und Prophylaxe von Abstoßungsreaktionen nach Transplantationen.

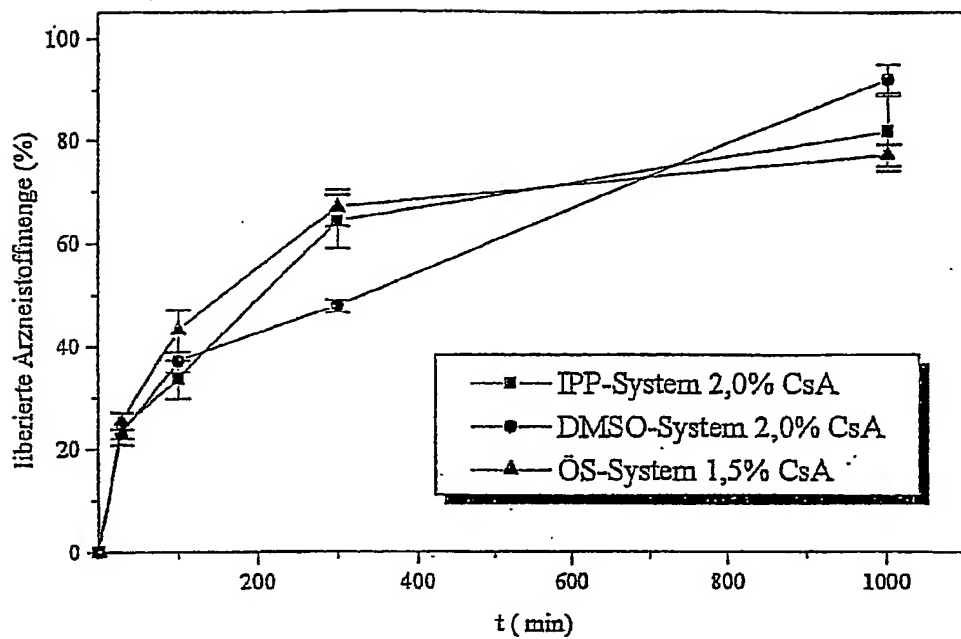


Abb. 1 liberierte Arzneistoffmenge (in %) in Abhängigkeit von der Zeit, $\bar{x} \pm s$, n=5

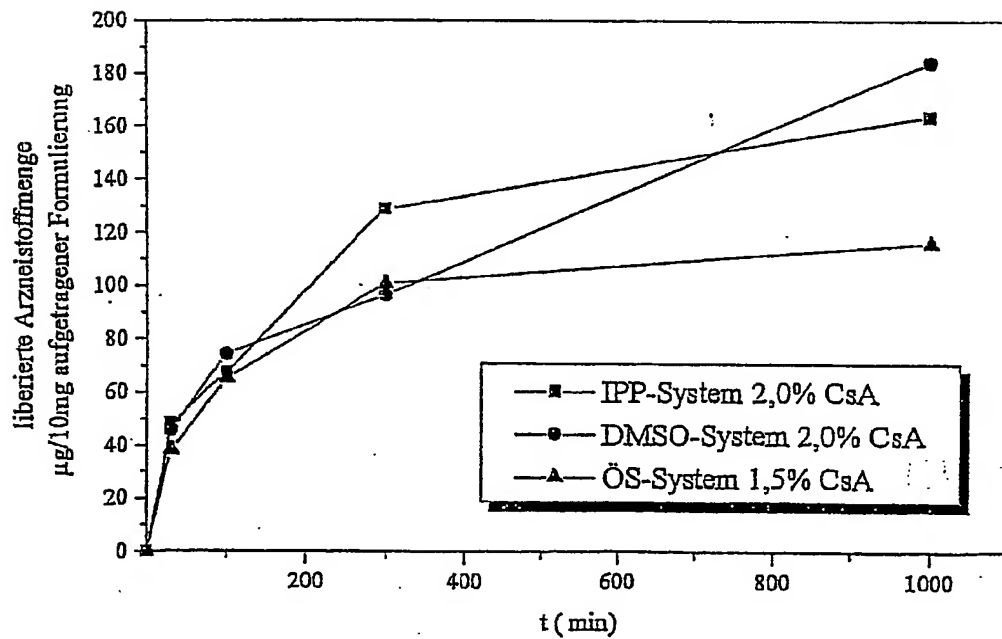


Abb. 2 liberierte Arzneistoffmenge in µg/10mg applizierter Formulierung in Abhängigkeit von der Zeit

DMSO-System

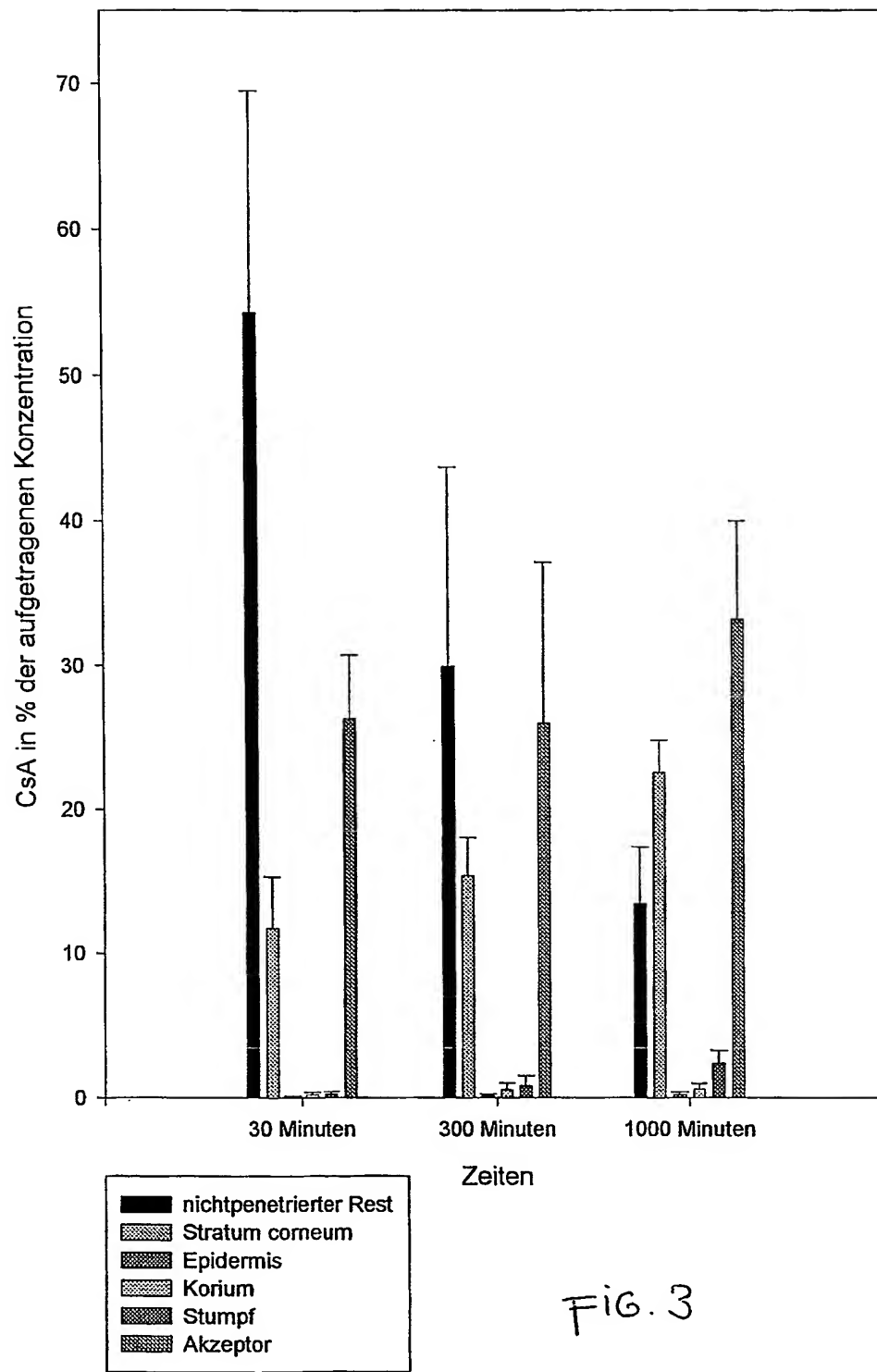


FIG. 3

IPP-System

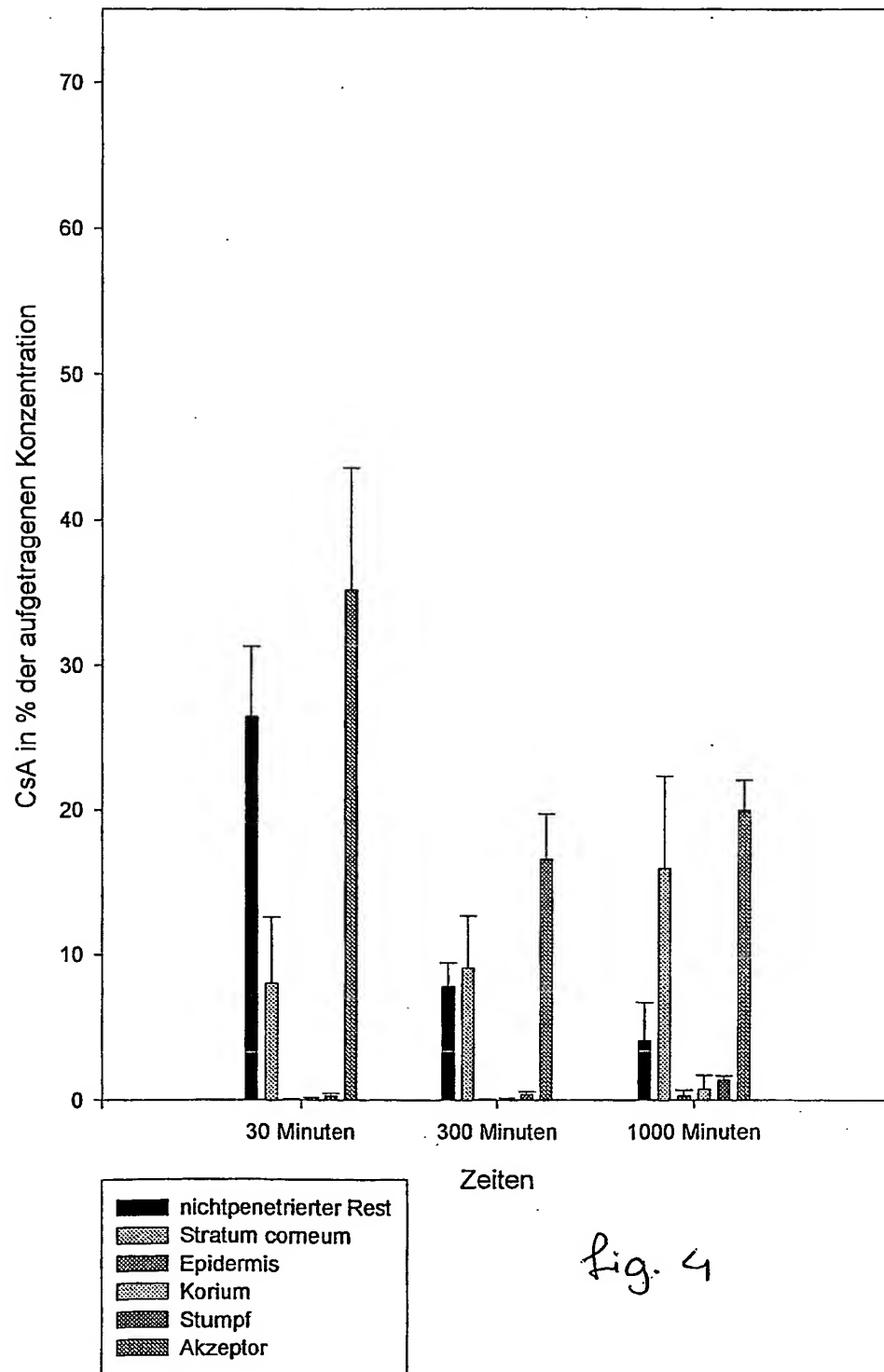


Fig. 4

ÖS-System

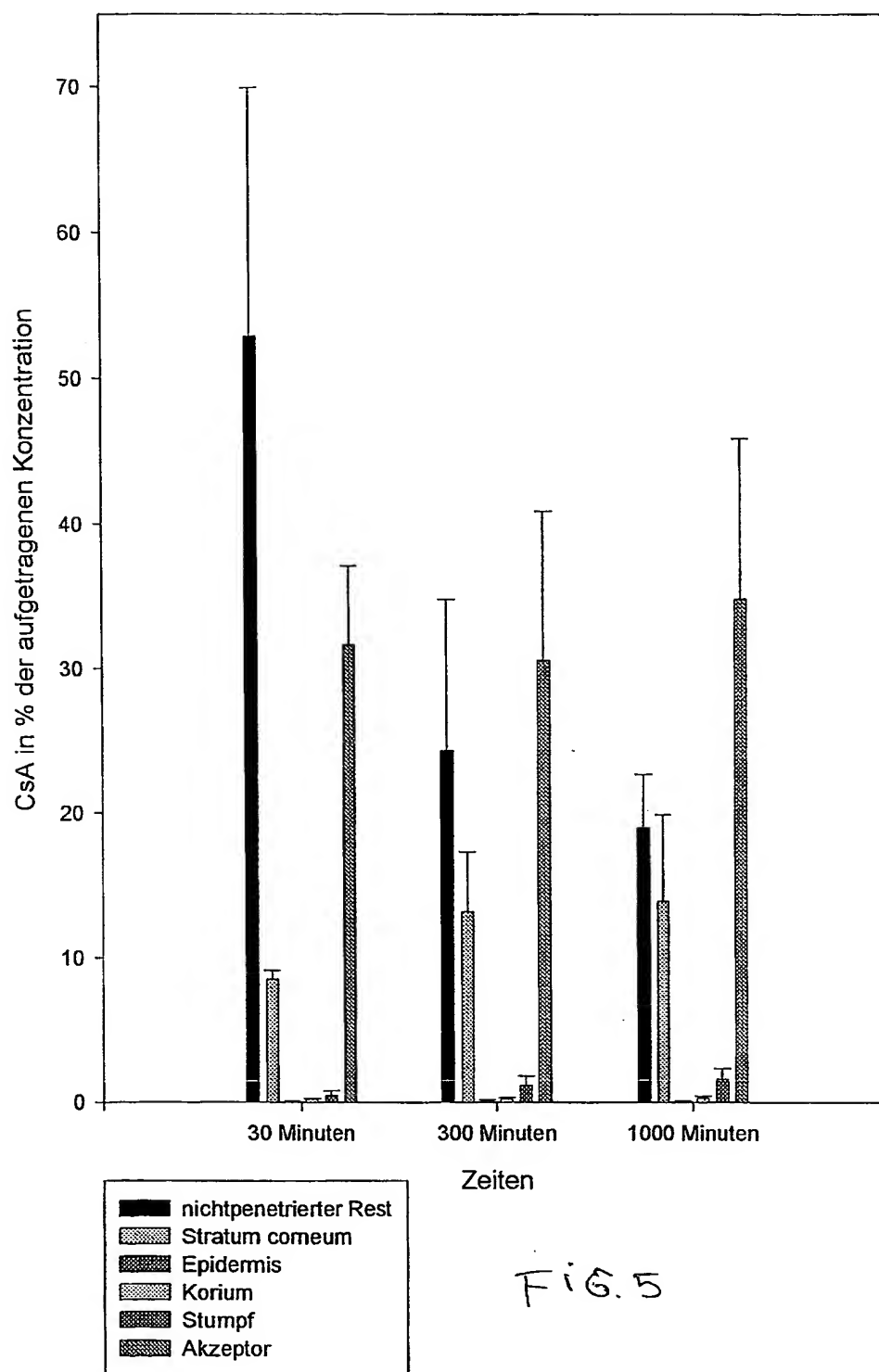


FIG. 5

DMSO-System

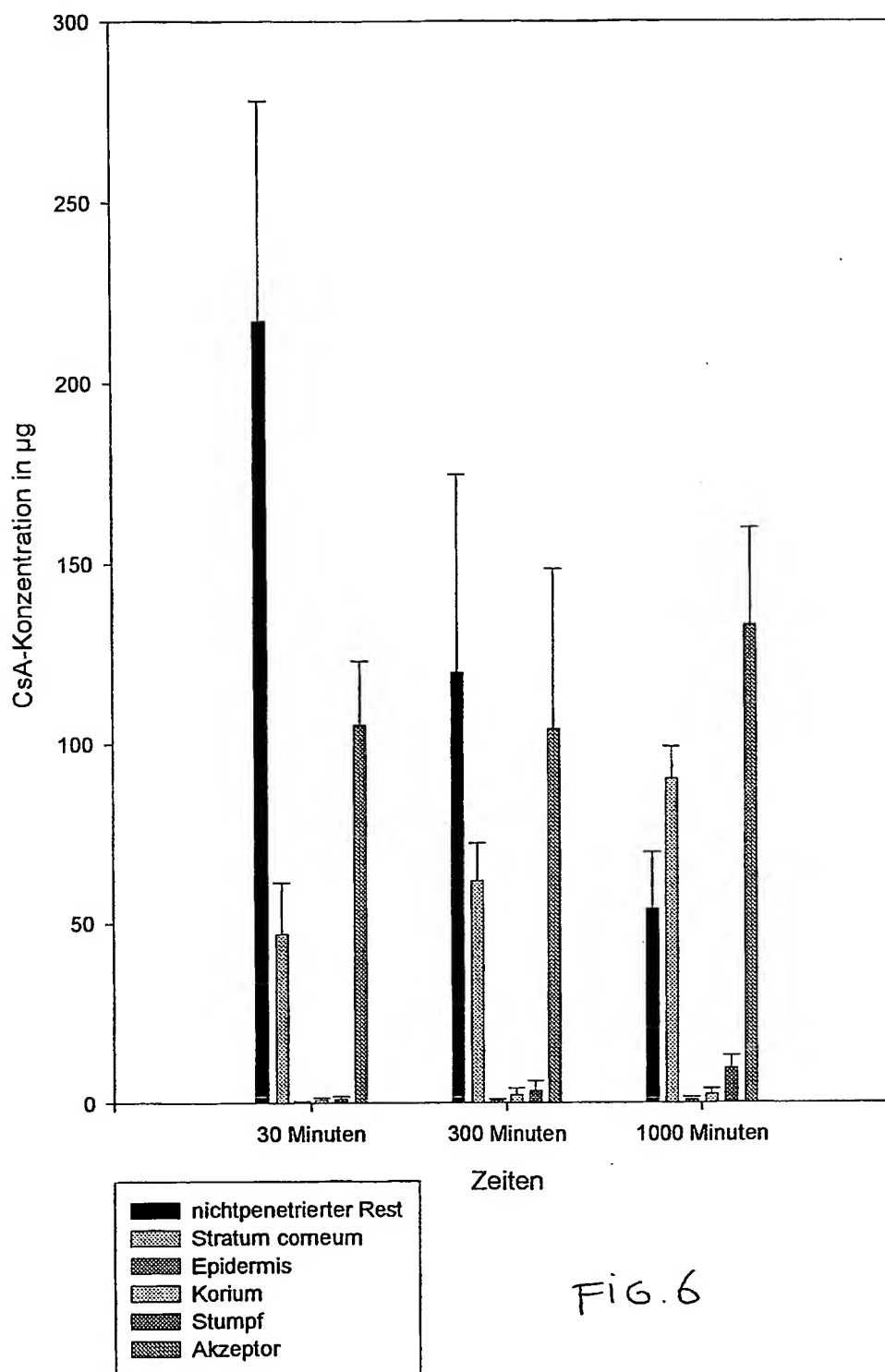


FIG. 6

IPP-System

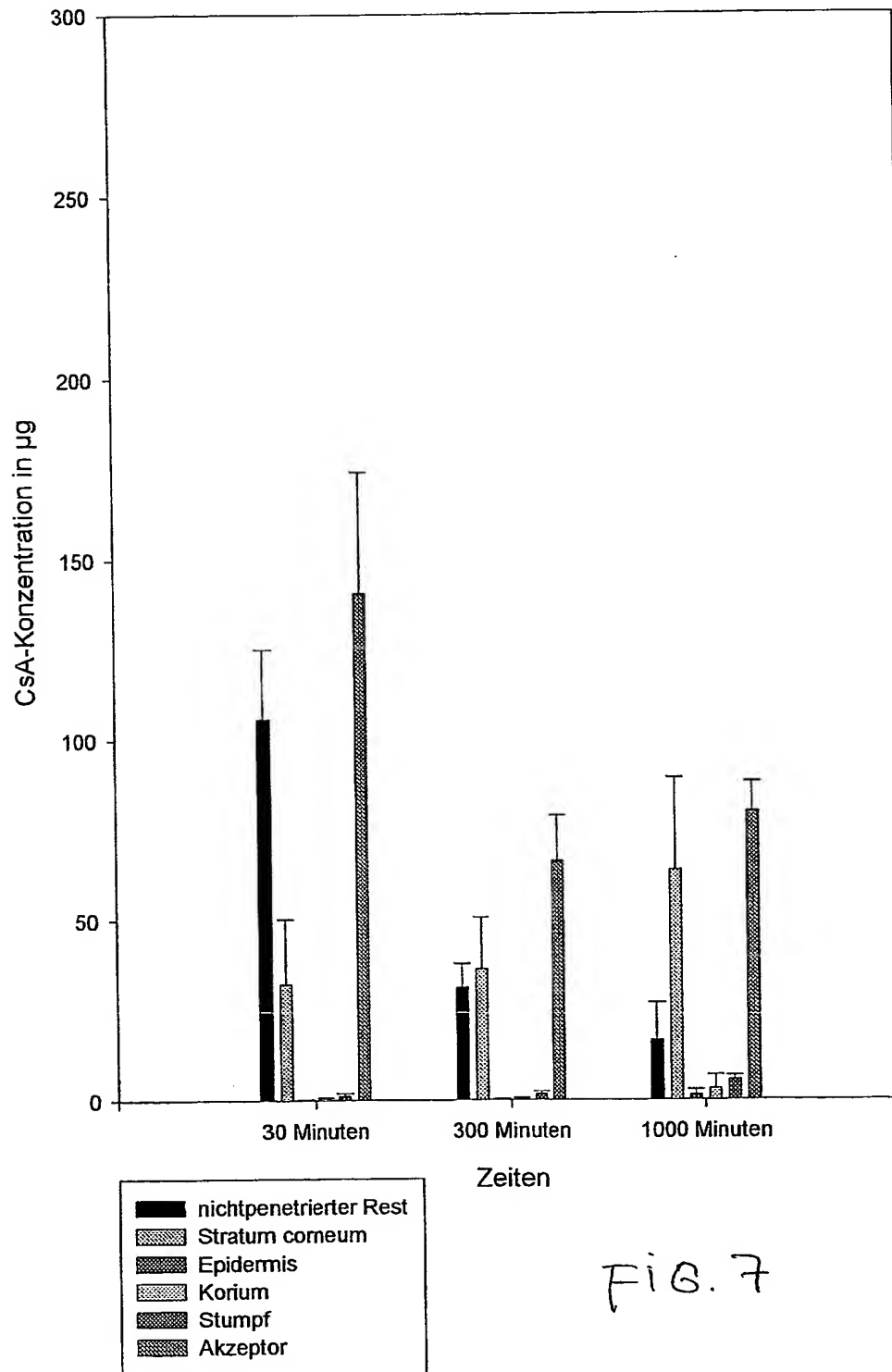
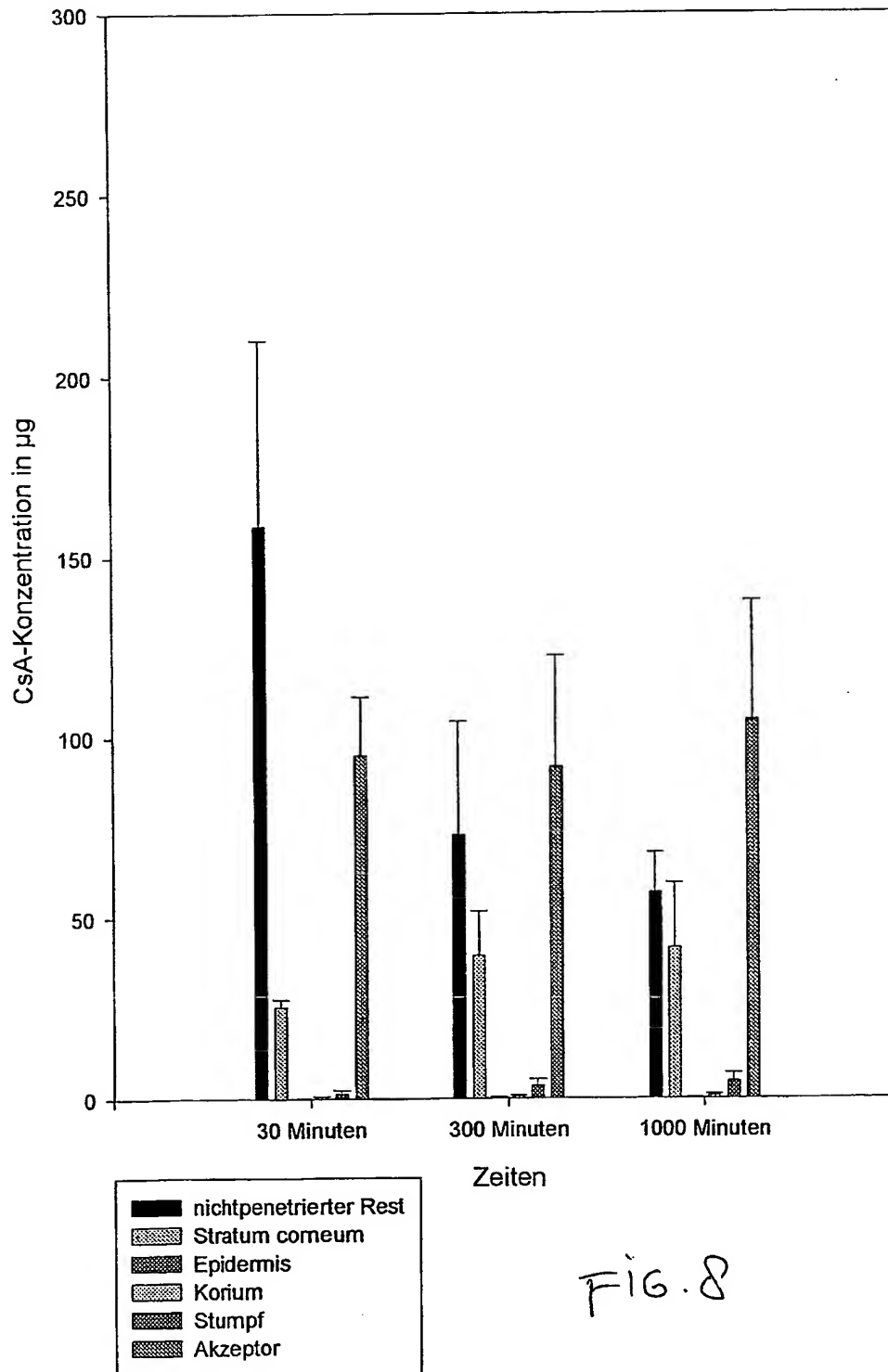


FIG. 7

ÖS-System



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 01/14749

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K38/13 A61K9/107

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	DE 100 29 404 A (J. WOHLRAB) 3 January 2002 (2002-01-03) the whole document	1-20
Y	WO 94 08603 A (SMITHKLINE BEECHAM) 28 April 1994 (1994-04-28) claims page 10, line 20	1-20
Y	WO 94 08605 A (SMITHKLINE BEECHAM) 28 April 1994 (1994-04-28) claims page 10, line 38	1-20
Y	WO 99 39700 A (VECTORPHARMA S.P.A., IT) 12 August 1999 (1999-08-12) claims	1-20

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 July 2002

Date of mailing of the international search report

05/08/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, F.B. 5616 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3010

Authorized officer

Scarponi, U

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/14749

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10029404	A	03-01-2002	DE 10029404 A1	03-01-2002
WO 9408603	A	28-04-1994	EP 0671929 A1	20-09-1995
			JP 8502490 T	19-03-1996
			WO 9408603 A1	28-04-1994
WO 9408605	A	28-04-1994	EP 0666752 A1	16-08-1995
			JP 8502492 T	19-03-1996
			WO 9408605 A1	28-04-1994
WO 9939700	A	12-08-1999	IT MI980234 A1	06-08-1999
			AU 747129 B2	09-05-2002
			AU 2723899 A	23-08-1999
			BR 9907683 A	14-11-2000
			CA 2319565 A1	12-08-1999
			WO 9939700 A1	12-08-1999
			EP 1051160 A1	15-11-2000
			JP 2002502813 T	29-01-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/14749

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K38/13 A61K9/107

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
E	DE 100 29 404 A (J. WOHLRAB) 3. Januar 2002 (2002-01-03) das ganze Dokument	1-20
Y	WO 94 08603 A (SMITHKLINE BEECHAM) 28. April 1994 (1994-04-28) Ansprüche Seite 10, Zeile 20	1-20
Y	WO 94 08605 A (SMITHKLINE BEECHAM) 28. April 1994 (1994-04-28) Ansprüche Seite 10, Zeile 38	1-20
Y	WO 99 39700 A (VECTORPHARMA S.P.A., IT) 12. August 1999 (1999-08-12) Ansprüche	1-20

☐

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

g Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26. Juli 2002

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

05/08/2002

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Scarponi, U

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/14749

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
DE 10029404	A	03-01-2002	DE	10029404 A1	03-01-2002
WO 9408603	A	28-04-1994	EP	0671929 A1	20-09-1995
			JP	8502490 T	19-03-1996
			WO	9408603 A1	28-04-1994
WO 9408605	A	28-04-1994	EP	0666752 A1	16-08-1995
			JP	8502492 T	19-03-1996
			WO	9408605 A1	28-04-1994
WO 9939700	A	12-08-1999	IT	MI980234 A1	06-08-1999
			AU	747129 B2	09-05-2002
			AU	2723899 A	23-08-1999
			BR	9907683 A	14-11-2000
			CA	2319565 A1	12-08-1999
			WO	9939700 A1	12-08-1999
			EP	1051160 A1	15-11-2000
			JP	2002502813 T	29-01-2002

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)